

1-(2-Chloroethyl)-3-(4-substituted-2,3-dioxo-1-piperazinylalkyl)-1-nitrosoarea の合成並びにその物理化学的性質

堀 孝子, 桃井海秀, 木羽泰男, 吉田長作, 酒井広志, 竹野隆恒,
大橋俊則, 岸本寿美子, 才川 勇
富山化学工業株式会社 総合研究所¹⁾

Synthesis and Physico-chemical Properties of 1-(2-Chloroethyl)-3-(4-substituted-2,3-dioxo-1-piperazinylalkyl)-1-nitrosoarea

TAKAKO HORI, KAISHU MOMONOI, YASUO KIBA, CHOSAKU YOSHIDA, HIROSHI SAKAI,
RYUKO TAKENO, TOSHINORI OHASHI, SUMIKO KISHIMOTO, and ISAMU SAIKAWA
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.¹⁾

(Received January 16, 1979)

1-(2-Chloroethyl)-3-(4-substituted-2,3-dioxo-1-piperazinylalkyl)-1-nitrosoarea (Ia—r) were synthesized and their physico-chemical properties were examined.

Along with an increase of the carbon number n between the nitrosoarea moiety and the 2,3-dioxopiperazine ring, the alkylating activity was reduced, the stability in aqueous solution at pH 7—8 was increased, and the NH proton of the nuclear magnetic resonance spectrum was shifted to a higher field. They were not related to the 4-substituent R of the 2,3-dioxopiperazine ring.

Keywords—antitumor agent; N-chloroethyl-N-nitrosoarea derivatives; 2,3-dioxopiperazinyl moiety; physico-chemical property; alkylating activity; stability in aqueous solution

最近ニトロソ尿素系制癌剤が注目をあび、CCNU,²⁾ ACNU,³⁾ および GANU⁴⁾ 等種々の化合物が報告されている。また2,3-dioxopiperazinyl 基を moiety とする化合物には、抗菌剤⁵⁾ ならびに抗ウイルス剤⁶⁾ が知られている。

そこで今回著者等は、この moiety を制癌剤特にニトロソ尿素系制癌剤に適用することを考え Chart 1 に示す様な 1-(2-chloroethyl)-3-(4-substituted-2,3-dioxo-1-piperazinylalkyl)-1-nitrosoarea (I) を合成した。またそのアルキル化能、安定性ならびに核磁気共鳴 (NMR) スペクトル等の物理化学的性質と構造との相関性を検討し若干の知見を得たのであわせて報告する。

著者らは I を Chart 2 に示す様な A 法^{3a)} または B 法²⁾ により合成した。すなわち A 法は原料アミノ体 (II) と *p*-nitrophenyl N-(2-chloroethyl)-N-nitrosocarbamate を反応させ直接 I を得る方法であり、B 法は II を 2-chloroethylisocyanate と反応させいったん尿素体 (III) とした後これをニトロソ化して I を得る方法である。

しかし B 法では III のニトロソ化において $n \neq 0$ の場合に I のニトロソ基の位置異性体 (IV) を副生する為、両者の分離はカラムクロマトグラフィーが必要であった。一方 $n=0$ の場合は選択的に I を得ることが出来た。こ

1) Location: 2-4-1, Shimookui, Toyama.

2) T.P. Johnston, G.S. McCaleb, P.S. Opliger, J.A. Montgomery, *J. Med. Chem.*, **9**, 892 (1966); 塚越 茂, 癌と化学療法, **1**, 137 (1974).

3) a) 中尾英雄, 福島正美, 清水総明, 荒川順生, 薬誌, **94**, 1032 (1974); b) F. Shimizu, M. Arakawa, *Gann*, **66**, 149 (1975).

4) M. Aoshima, Y. Sakurai, *Gann*, **68**, 247 (1977); T. Hisamatsu, S. Uchida, *ibid.*, **68**, 819 (1977).

5) a) 才川 勇, 高野俊太郎, 吉田長作, 高島億太, 桃井海秀, 保田 隆, 加須屋興子, 小松美和子, 薬誌, **97**, 980 (1977); b) 才川 勇, 保田 隆, 滝 秀雄, 田井 賢, 渡辺泰雄, 酒井広志, 高野俊太郎, 吉田長作, 加須屋興子, 薬誌, **97**, 987 (1977).

6) C.D. Lunsford, A. D. Cale, U.S. Patent 3891646 (1975).

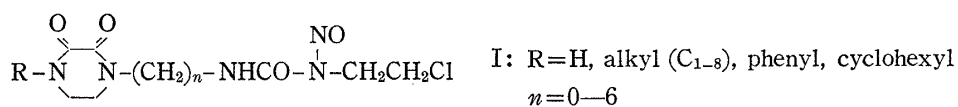


Chart 1

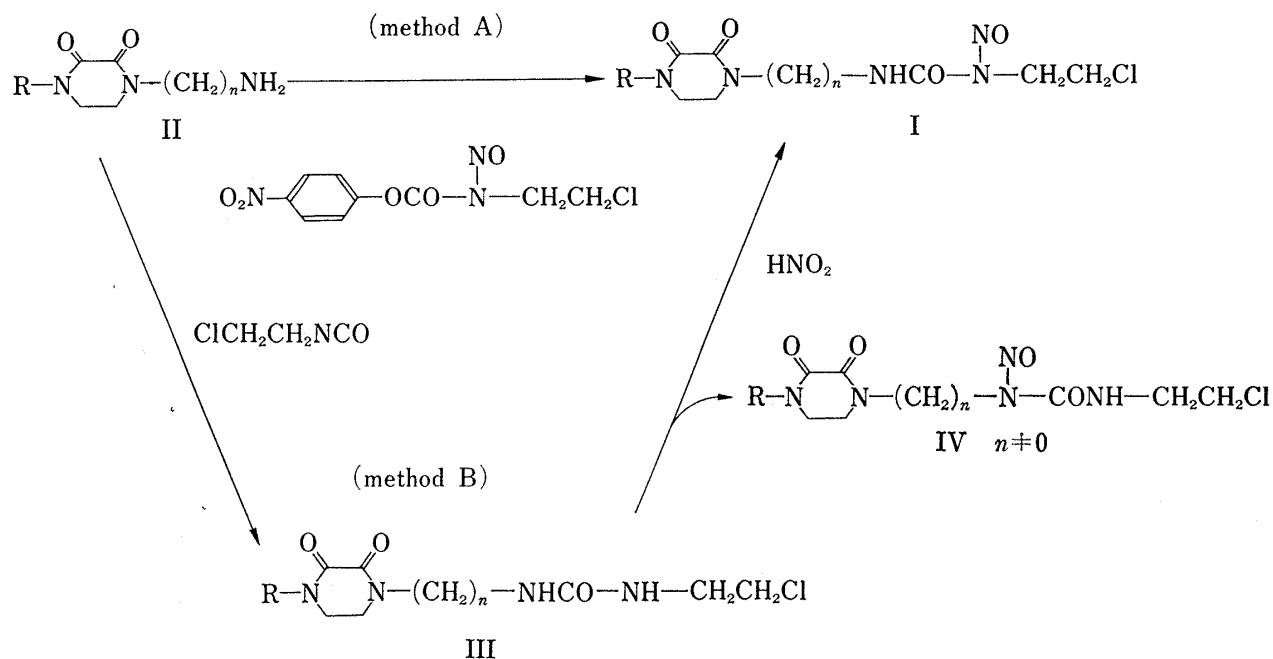


Chart 2

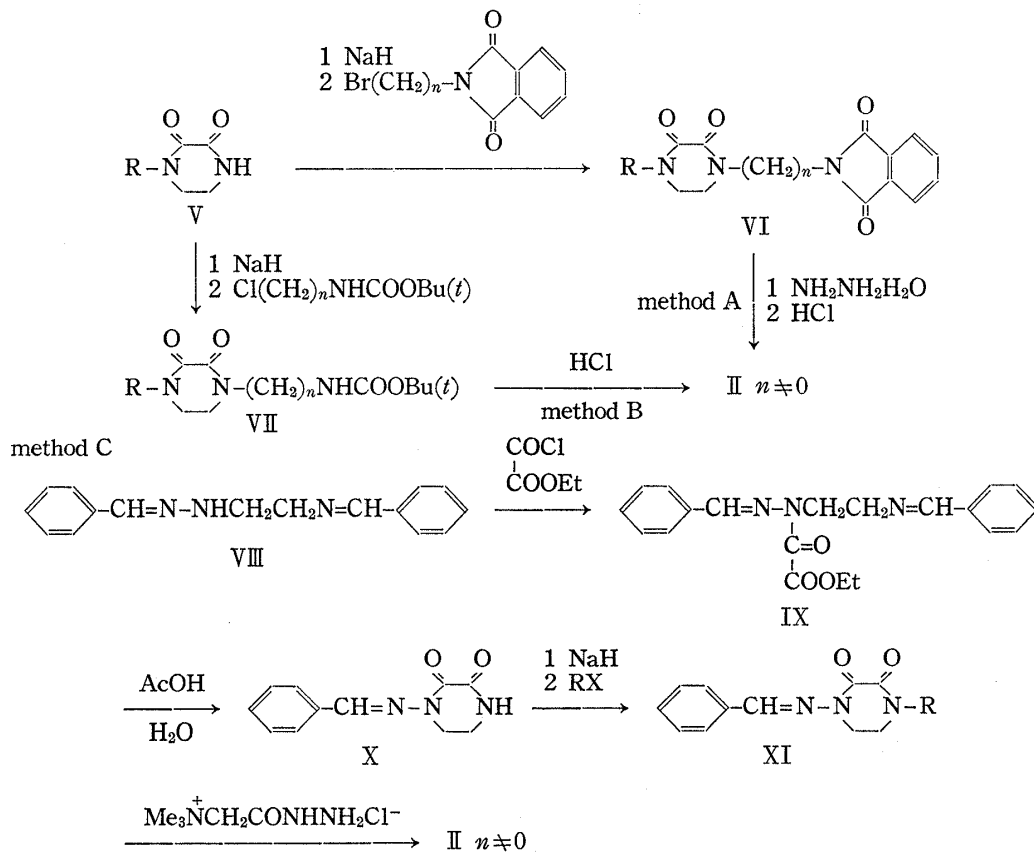
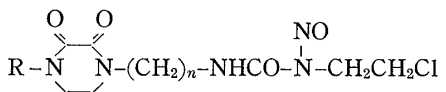


Chart 3

TABLE I. N-(2-Chloroethyl)-N-nitrosourea Derivatives



$$\text{R}-\text{N} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array} \text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{NHCO}-\text{N} \begin{array}{c} \text{NO} \\ | \end{array} -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$$

Compd. No.	R	n	mp (°C) (dec.)	Formula	Analysis, Calcd. (%) (Found)		
					C	H	N
Ia	C ₂ H ₅	0	142.5	C ₉ H ₁₄ ClN ₅ O ₄	37.06 (37.45)	4.84 4.90	24.01 23.72
Ib	C ₈ H ₁₇	0	127—128	C ₁₅ H ₂₆ ClN ₅ O ₄	51.94 (52.03)	7.85 7.92	16.15 16.07
Ic	C ₂ H ₅	1	134—136	C ₁₀ H ₁₆ ClN ₅ O ₄	39.29 (39.51)	5.28 5.32	22.91 22.60
Id	H	2	134—135	C ₉ H ₁₄ ClN ₅ O ₄	37.06 (37.53)	4.83 4.85	24.00 23.39
Ie	CH ₃	2	115	C ₁₀ H ₁₆ ClN ₅ O ₄	39.29 (39.60)	5.28 5.33	22.91 23.11
If	C ₂ H ₅	2	114—115	C ₁₁ H ₁₈ ClN ₅ O ₄	41.32 (41.68)	5.67 5.69	21.90 21.56
Ig	C ₄ H ₉	2	115.5—117	C ₁₃ H ₂₂ ClN ₅ O ₄	44.89 (45.53)	6.38 6.49	20.14 19.76
Ih	C ₈ H ₁₇	2	119—120	C ₁₇ H ₂₀ ClN ₅ O ₄	50.54 (50.96)	7.48 7.60	17.34 17.15
Ii	CH ₃	3	70—72	C ₁₁ H ₁₈ ClN ₅ O ₄	41.32 (41.92)	5.67 5.73	21.90 21.41
Ij	C ₂ H ₅	3	62—65	C ₁₂ H ₂₀ ClN ₅ O ₄	43.18 (43.86)	6.04 6.05	20.98 20.45
Ik	C ₃ H ₇	3	80—83	C ₁₃ H ₂₂ ClN ₅ O ₄	44.89 (45.75)	6.38 6.53	20.14 19.62
Il	C ₄ H ₉	3	80—81	C ₁₄ H ₂₄ ClN ₅ O ₄	46.47 (47.29)	6.69 6.85	19.36 18.98
Im	C ₆ H ₁₃	3	64	C ₁₆ H ₂₈ ClN ₅ O ₄	49.29 (49.51)	7.24 7.30	17.96 17.66
In	C ₈ H ₁₇	3	67—68	C ₁₈ H ₃₂ ClN ₅ O ₄	51.73 (50.88)	7.72 7.59	16.76 17.26
Io	C ₂ H ₅	4	63—65	C ₁₃ H ₂₂ ClN ₅ O ₄	44.89 (45.02)	6.38 6.47	20.14 20.03
Ip	C ₂ H ₅	6	Oil				
Iq		2	103	C ₁₅ H ₁₈ ClN ₅ O ₄	49.27 (48.98)	4.95 4.93	19.00 19.04
Ir		2	Oil				

れは $n=0$ の III において, dioxopiperazine 環の影響を強く受けている 3 位の窒素は 1 位のそれに比べて電子密度がより低いいため 1 位の窒素がニトロソ化されたものと考えられる. また A 法では異性体を生じる問題はなかったが, 副生する *p*-nitrophenol と I をカラムクロマトグラフィーによって分離精製した. このようにして得た Ia—r の物性を Table I に示した.

また原料化合物 II は Chart 3 に示す様に, $n \neq 0$ の場合は A 法または B 法で, $n=0$ の場合は C 法で合成した.

A 法は一般に知られている Gabriel の一級アミンの合成法を利用したものであり, B 法では *tert*-ブトキシカルバメート体 (VII) を加水分解することによってはじめて II を得る方法である. このルートは収率もよく反応操作も非常に簡単であった. 一方 C 法では, Gabriel 等の方法⁷⁾で得た N-(2-benzylideneaminoethyl)-N'-benzylidene

7) G. Gever, J.G. Michels, U.S. Patent 2746960 (1956) [C.A., 51, 2870c (1957)].

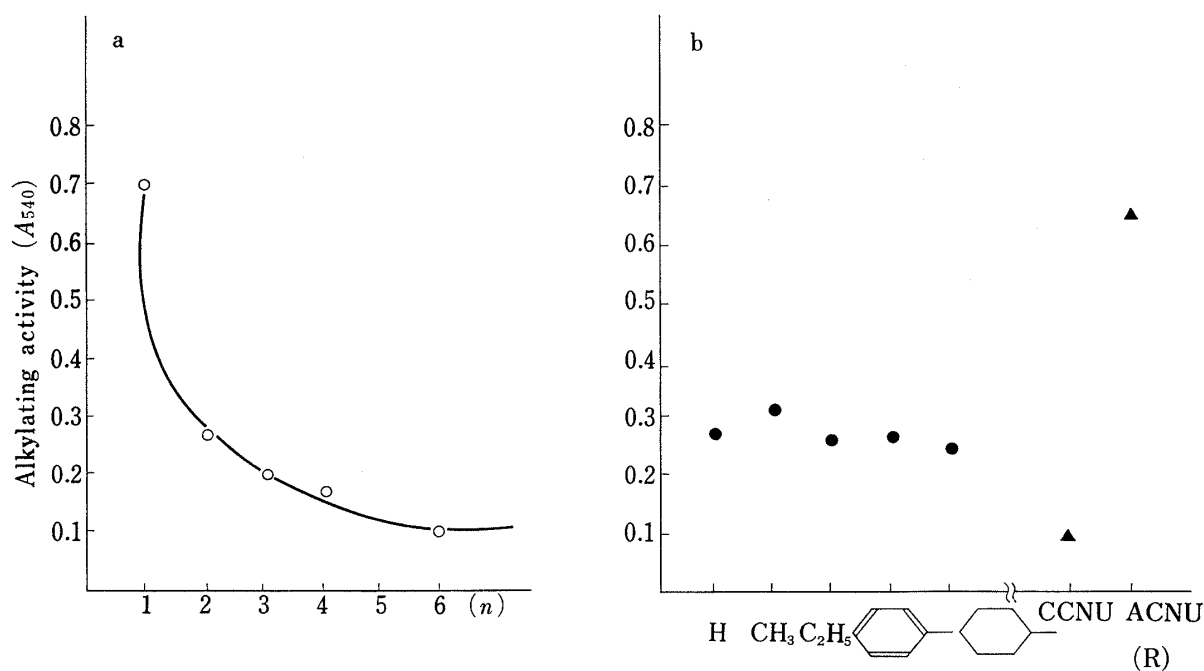


Fig. 1. Relationship between Chemical Structure and Alkylating Activity at pH 6.0

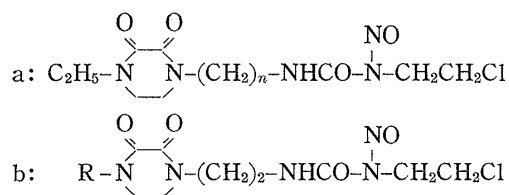


TABLE II. Stability in Aqueous Solution at 37°

Compd. No.	R	n	Decomposed ratio (%)		
			PH4 ^{a)}	PH7 ^{a)}	PH8 ^{b)}
Ic	C_2H_5	1	18.4	81.3	74.6
If	C_2H_5	2	6.4	47.3	57.4
Ij	C_2H_5	3	9.4	44.5	56.8
Io	C_2H_5	4	10.0	45.3	50.3
Ip	C_2H_5	6	20.6	43.1	49.2
Id	H	2	29.6	45.6	39.5
Ie	CH_3	2	9.8	46.0	42.3
Iq		2	7.0	36.5	40.8
Ir		2	6.7	38.8	40.6
ACNU			5.5	74.4	75.6

Assayed by High Pressure Liquid Chromatography described in experimental methods.

a) for 2 hr. b) for 1 hr.

TABLE III. NH Proton Shift (δ)
$$\text{R}-\text{N} \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{N} \end{array} \text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{NHCO}-\text{N}(\text{NO})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$$

Compd. No.	R	n	NH Proton (δ)
Ia	C ₂ H ₅	0	10.00
Ic	C ₂ H ₅	1	8.41
If	C ₂ H ₅	2	8.13
Ij	C ₂ H ₅	3	8.00
Io	C ₂ H ₅	4	7.70
Ip	C ₂ H ₅	6	7.25
Id	H	2	8.83
Ie	CH ₃	2	8.08
Ig	C ₄ H ₉	2	8.17
Ih	C ₈ H ₁₇	2	8.05
Iq		2	7.95

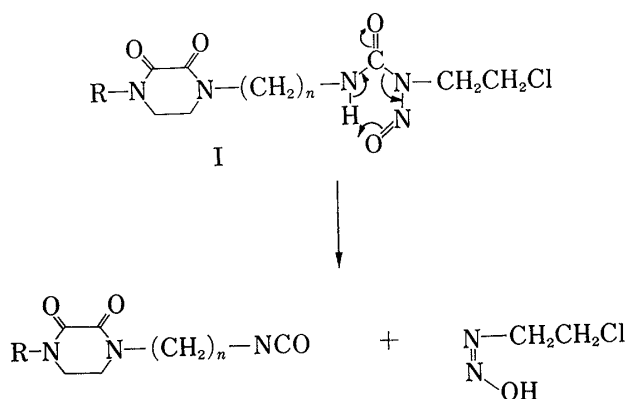
Solvent: CDCl₃.

Chart 4

hydrazine (VIII) に ethoxalyl chloride を反応させた後, AcOH-H₂O 中加水分解と同時に閉環させて benzylideneamino 体 (X) を得, ついでアルキル化した後ジラール試薬と反応させアミノ体 II を得た。

上記化合物はすべて新規化合物であり, その構造を赤外線吸収 (IR) スペクトル, NMR スペクトルおよび元素分析値等から確認した。

ニトロソ尿素系制癌剤の作用メカニズムは種々検討されているが,⁸⁾ その一つにアルキル化作用が挙げられる。一般にアルキル化剤ではアルキル化能の測定が一応の目安として検討されている。^{9,10)} そこで著者等は Wheeler 等の方法¹⁰⁾ によって, pH 6

でのアルキル化能を測定した。その結果を Fig. 1 に示した。アルキル化能は, 2, 3-dioxopiperazine 環とニトロソ尿素基との間の炭素数 n に影響され, n が大きくなるにつれてアルキル化能は低下した。また piperazine 環の 4 位の置換基 R には左右されなかった。 $n=1$ の Ic は ACNU とほぼ同等の活性を示した。このようにアルキル化能と構造との間に相関々係を見い出したので, 著者等はさらにアルキル化能に関連する I の水溶液中での安定性を検討した。すなわち 37° における pH 4, pH 7 および pH 8 での水溶液中の安定性を検討した。pH 4 および 7 では 2 hr での, また pH 8 では 1 hr での分解率を高速液体クロマトグラフィーから測定した。その結果を Table II に示した。pH 4 では pH 7 や 8 より安定であった。R=C₂H₅ の場合, pH 4 では $n=2$ を境として安定性が低下した。また pH 7 および 8 では $n=1$ の時が最も不安定であり, n が 2 以上の場合安

8) R.A.G. Ewig, K.W. Kohn, *Cancer Res.*, **37**, 2114 (1977); J. Hilton, D.L. Bowie, P.H. Gutin, D.M. Zito, M.D. Walker, *ibid.*, **37**, 2262 (1977); 中村 徹, 沢田博義, 笹田昌孝, 田嶋政郎, 内田三千彦, 内野治人, 日本癌学会第 36 回総会, 東京, 昭和 52 年 10 月, 講演予稿集, No. 521; 窪田吉信, 西村隆一, 高一修道, 梅田 誠, 日本癌学会第 36 回総会, 東京, 昭和 52 年 10 月, 講演予稿集 No.558.

9) L.C. Panasci, P.A. Fox, P.S. Schein, *Cancer Res.*, **37**, 3321 (1977); L.C. Panasci, D. Green, R. Nagourney, P.A. Fox, P.S. Schein, *ibid.*, **37**, 2615 (1977).

10) G.P. Wheeler, S. Chumley, *J. Med. Chem.*, **10**, 259 (1967).

定性が逆に増加し, pH により異なった値を示した. 一方 $n=2$ の場合, R との関係は, pH 4 では $R=H$ の時が最も不安定であり, 他の置換基では分解率が 6—10% と大差なかった. しかし pH 8 では, $R=C_2H_5$ の時が一番不安定であるが他はほとんど差はなく, pH 7 では R による差はないと言える. 対照の ACNU も pH 4 では安定であったが, pH 7 や 8 では不安定であり化合物 Ic と同等の安定性を示した. 以上の結果から, 安定性も n との関連性が大きいことがわかりました, pH 7—8 での安定性とアルキル化能は相関した. この関係はまた I の NMR スペクトルにおける NH のケミカルシフトにも反映していることがわかった. すなわち I の NH のケミカルシフトは, メチレン鎖 n が大きくなるにつれて高磁場側にシフトした. また置換基 R との関係は, R が H の場合は高磁場側へシフトしたが, R の炭素数の増減には関係しないことがわかった. その結果を Table III に示した.

一般にニトロソ尿素系制癌剤のアルキル化および分解の機構は Chart 4 に示すルートで進行するといわれる.¹¹⁾ アルキル化能が高いということは, この反応性が大であることを示す. ここで n の増大によりそれが低下することは, I における 2,3-dioxopiperazine 環の効果がメチレン鎖によって順次遮蔽されるためと考えられる. したがって, アルキル化能が高い程あるいは pH 7—8 で不安定な程, NH の水素は酸性を帯びることになるため NMR スペクトルで低磁場側へ移動するものと思われる.

以上検討した I の物理化学的性質が抗腫瘍効果といかに関連しているか興味を持たれるところである.

実験の部¹²⁾

1-(2-Chloroethyl)-3-[2-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinyl)ethyl]-1-nitrosourea (If) A 法——1-(2-Aminoethyl)-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine hydrochloride (IIIf HCl) 3.0 g を EtOH 20 ml に懸濁し, triethylamine 2.1 ml を加え室温で 30 min 攪拌後 *p*-nitrophenyl N-(2-chloroethyl)-N-nitrosocarbamate 4.0 g 及び tetrahydrofuran 20 ml を加え, 室温で 1 hr 反応させる. ついで溶媒を減圧下に留去し得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($CHCl_3$ -acetone で溶出) で精製し, acetone-(iso-Pr)₂O から再結晶すれば淡黄色板状結晶 2.3 g (収率 68.3%) を得. mp 114—115° (dec.). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3340 (NH), 1720, 1660 (C=O), 1477 (N=O). NMR ($CDCl_3$) δ : 1.17 (3H, t, $J=7.5$ Hz, CH_3), 3.90—3.28 (12H, m, piperazine ring 5 and 6 CH_2 , CH_3CH_2 -, $ClCH_2CH_2$ - and NO $\begin{array}{c} \diagup \\ N-CH_2CH_2-NHCO- \end{array}$), 4.11 (2H, t, $J=6$ Hz, $-NCH_2$), 8.13 (1H, m, NH). Anal. Calcd. $C_{11}H_{18}ClN_5O_4$: C, 41.32; H, 5.67; N, 21.90. Found: C, 41.68; H, 5.69; N, 21.56.

B 法——1-(2-Chloroethyl)-3-[2-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinyl)ethyl]urea (IIIIf) 0.5 g を $HCOOH$ 10 ml に溶解し, 氷冷下 $NaNO_2$ 0.12 g を少量ずつ添加し 0—5° で 1 hr 攪拌する. 反応終了後 CH_2Cl_2 20 ml 及び H_2O 10 ml を反応液に加え有機層を分取し, 水層をさらに CH_2Cl_2 10 ml で抽出する. 分取した CH_2Cl_2 層を併わせ, 飽和 $NaHCO_3$ 水溶液, さらに飽和食塩水で洗浄後 $MgSO_4$ 乾燥. ついで減圧濃縮し得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離精製する. $CHCl_3$ 溶出フラクションを濃縮すれば 1-(2-chloroethyl)-3-[2-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinyl)ethyl]-3-nitrosourea (IVIf) の淡黄色晶を得. 収量 0.25 g (収率 45%). mp 114—115° (dec.). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3340 (NH), 1708, 1658 (C=O), 1475 (N=O). NMR ($CDCl_3$) δ : 1.19 (3H, t, $J=7$ Hz, CH_3), 3.20—3.90 (12H, m, piperazine ring 5 and 6 CH_2 , CH_3CH_2 -, $\begin{array}{c} \diagup \\ N-CH_2-CH_2N(NO)- \end{array}$, $ClCH_2CH_2-NH$ -), 4.05 (2H, t, $J=5$ Hz, $\begin{array}{c} \diagup \\ N-CH_2CH_2N(NO) \end{array}$), 7.55 (1H, m, NH). Anal. Calcd. $C_{11}H_{18}ClN_5O_4$: C, 41.32; H, 5.67; N, 21.90. Found: C, 41.40; H, 5.69; N, 22.04. 次に $CHCl_3$: EtOH (15:1) の溶出フラクションを濃縮すれば If の淡黄色晶を得. 収量 0.22 g (収率 40%). このものの IR および NMR スペクトル, mp, 薄層クロマトグラムは A 法から得られたものと一致した.

1-(2-Chloroethyl)-3-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinyl)-1-nitrosourea (Ia) 1-(2-Chloroethyl)-3-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinyl)urea (IIIa) 2.0 g を conc. HCl 8 ml に溶解し, 氷冷下 $NaNO_2$ 1.84 g を 30 min を要して添加後 1 hr 反応させる. 反応終了後 CH_2Cl_2 20 ml を加え有機層を分取し, 水洗の後 $MgSO_4$ 乾燥. ついで溶媒を減圧下に留去して得られる残留物に AcOEt 10 ml を加えて析出する淡黄色結晶を濾取, 収量 1.5 g (収率 67.6%). mp 142.5° (dec.). (AcOEt). IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1726, 1680, 1660 (C=O), 3220 (NH), 1480 (N=O). NMR ($CDCl_3$) δ : 1.18 (3H, t, $J=6.9$ Hz, $-CH_2CH_3$), 3.36—4.23 (10H, m, piperazine ring 5 and 6 CH_2 , $-CH_2CH_3$ and $ClCH_2$ -

11) J.A. Montgomery, R. James, G.S. McCaleb, M.C. Kirk, T.P. Johnstor, *J. Med. Chem.*, **18**, 569(1975); A. Begleit, H.Y.P. Lam, G.J. Goldenberg, *Cancer Res.*, **37**, 1022 (1977).

12) 融点はすべて未補正, IR ppectrum は日立製 215 型で測定, 元素分析は日立製 O26 型で測定, NMR spectrum は日立製 R24 型を用い内部標準物質として $Si(CH_3)_4$ を使用した.

CH_2N), 10.00(1H, bs, NH). *Anal.* Calcd. $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{ClN}_5\text{O}_4$: C, 37.06; H, 4.84; N, 24.01. Found: C, 37.45; H, 4.90; N, 23.72.

1-(2-Chloroethyl)-3-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinyl)urea (IIIa) 1-Amino-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine (IIa) 6.0 g を MeCN 55 ml および CHCl_3 6 ml の混液に溶解し, ついで 2-chloroethylisocyanate 8.06 g を加え 30—35° で 12 hr 反応後析出する白色結晶を濾取. 収量 7.3 g (収率 73%). mp 165—167° (EtOH). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1660 (C=O), 3360, 3275 (NH). *Anal.* Calcd. $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_3$: C, 41.15; H, 5.75; N, 21.32. Found: C, 41.11; H, 5.79; N, 21.11. 同様にして化合物 III を得. III, R, *n*, mp, 再結晶溶媒: IIIb, C_8H_{17} , O, 189°, AcOEt; IIIf, C_2H_5 , 2, 178—179°, IPA; IIIh, C_8H_{17} , 2, 203—204°, IPA; IIIp, C_2H_5 , 6, 212°, MeCN.

1-(2-Aminoethyl)-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine Hydrochloride (IIf·HCl) A 法——1-Ethyl-2,3-dioxo-4-(2-phthalimidoethyl)piperazine (VI f) 5.0 g を EtOH 40 ml に懸濁し, $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.95 g を加え室温で一夜反応させる. ついで溶媒を減圧下に留去し, 得られる残留物に, H_2O 30 ml 及び 6*N* HCl 7.9 ml を加えて一夜放置後不溶部を濾去し, 濾液を減圧下に濃縮乾固すれば, 白色結晶 2.8 g (収率 79.5%) を得. mp 218° (dec.) (EtOH). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1660 (C=O). *Anal.* Calcd. $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2$: C, 43.34; H, 7.28; N, 18.95. Found: C, 43.44; H, 7.46; N, 18.79. 同様にして次の化合物を得た. II, R, *n*, mp, 再結晶溶媒: IIc·HCl, C_2H_5 , 1, 186—188° (dec.), EtOH; IId·HCl, H, 2, >270°, 95% EtOH; IIe·HCl, CH_3 , 2, 206—208° (dec.), EtOH; IIg, C_4H_9 , 2, 134—135°, benzene; IIh·HCl, C_8H_{17} , 2, >240°, MeOH-IPA; IIi·HCl, CH_3 , 3, 油状物; IIj·HCl, C_2H_5 , 3, 油状物; IIk·HCl, C_3H_7 , 3, 油状物; IIl·HCl, C_4H_9 , 3, 油状物; IIm·HCl, C_6H_{13} , 3, 油状物; IIn·HCl, C_8H_{17} , 3, 油状物; IIo·HCl, C_2H_5 , 4, 168—171°, IPA; IIp·HCl, C_2H_5 , 6, 199—201°, EtOH-ether; IIq·HCl, C_6H_5 , 2, 215—218°, EtOH- H_2O ; IIr·HCl, cyclo- C_6H_{11} , 253—257°, EtOH-IPA.

B 法——*tert*-BuOH 300 ml に *tert*-BuOK 25.6 g および 1-ethyl-2,3-dioxopiperazine (VI)^{5a} 30 g を加え 2 hr 還流後, *tert*-butyl 2-chloroethylcarbamate 39.8 g を加え更に 4 hr 還流する. ついで反応液を冷却後減圧下に溶媒を留去し, 残渣に CH_2Cl_2 225 ml および H_2O 45 ml を加え CH_2Cl_2 層を分取. CH_2Cl_2 層を飽和食塩水 45 ml で洗浄後 MgSO_4 乾燥. 溶媒を減圧下に留去し得られる結晶を AcOEt から再結晶すれば, *tert*-butyl 2-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinyl)ethylcarbamate (VII f) の白色針状晶 51 g (収率 85%) を得. mp 167—168°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3260—3300 (NH), 1700, 1665 (C=O). NMR (CDCl_3) δ : 1.17 (3H, t, $J=7$ Hz, CH_3), 1.40, (9H, s, *tert*-Bu), 3.3—3.8 (10 H, m, piperazine ring 5 and 6 CH_2 , $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ and $\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$), 5.10 (1H, m, NH).

Anal. Calcd. $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 54.72; H, 8.12; N, 14.73. Found: C, 54.91; H, 8.15; N, 14.63. この結晶 51 g を EtOH 144 ml に溶解し, 2.6*N* HCl-EtOH 溶液 97 ml を加え 2 hr 還流する. 一晚放置後析出結晶を濾取すれば II f·HCl 36.1 g (収率 90%) を得

1-Amino-4-ethyl-2,3-dioxopiperazine (IIa) C 法——1-Benzylideneamino-2,3-dioxopiperazine (X) 10.0 g を 47% NaH 2.46 g を含む DMF 400 ml 懸濁液に添加し, 40° で 3 hr 反応させる. ついで EtBr 5.5 g を加え, 室温で 4 hr 反応後溶媒を減圧下に留去する. 残留物に CHCl_3 200 ml 及び H_2O 30 ml を加え有機層を分取, 水洗, 乾燥. 溶媒を減圧下に留去し, 残留物に ether 30 ml を加え析出する結晶を濾取. この結晶をジエーテル試薬 T 24.8 g を含む MeOH 200 ml 溶液に加え室温で 24 hr 反応させる. ついで溶媒を減圧下に留去し, CHCl_3 300 ml を加え不溶部を濾去し, 濾液を濃縮乾固して得られる結晶を IPA から再結晶すれば IIa の白色結晶 4.9 g (収率 71.8%) を得. mp 151—152°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1650 (C=O), 3450 (NH). NMR (CDCl_3) δ : 1.2 (3H, t, $J=6.9$ Hz, CH_3), 3.3—4.0 (6H, m, piperazine ring 5 and 6 CH_2 and $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.77 (2H, m, NH_2). 同様にして次の化合物を得た. IIb (R= C_8H_{17} , *n*=0) mp 105—106° (H_2O).

1-Ethyl-2,3-dioxo-4-(2-phthalimidoethyl) piperazine (VI f) 47% NaH 0.44 g を DMF 5 ml に懸濁しついで VI f 1.15 g の DMF 5 ml 溶液を加え室温で 1 hr 反応させる. 次に N-(2-bromoethyl) phthalimide 2.3 g を加え, 70—80° で 1 hr 反応後溶媒を減圧下に留去する. 得られた残留物に CH_2Cl_2 10 ml 及び H_2O 5 ml を加え有機層を分取, 水洗, 乾燥. ついで溶媒を減圧下に留去し, 得られる結晶を ether 洗浄し, EtOH から再結晶すれば白色鱗片状結晶 1.3 g (収率 51%) を得. mp 184—186°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1770, 1705, 1660 (C=O). *Anal.* Calcd. $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$: C, 60.95; H, 5.43; N, 13.33. Found: C, 61.13; H, 5.44; N, 13.31. 同様にして次の化合物を得た. VI, R, *n*, mp, 再結晶溶媒: VIc, C_2H_5 , 1, 221—223°, EGM; VId, H, 2, 186—189°, EtOH; VIe, CH_3 , 2, 274—278°, EGM; VIg, C_4H_9 , 2, 145—146°, IPA; VIh, C_8H_{17} , 2, 132—133°, IPA; VIIi, CH_3 , 3, 213—214°, MeOH-IPA; VIj, C_2H_5 , 3, 201°, IPA; VIk, C_3H_7 , 3, 173—175°, IPA; VII, C_4H_9 , 3, 137—139°, IPA; VIm, C_6H_{13} , 3, 110—111°, IPA; VIn, C_8H_{17} , 3, 130°, IPA; VIo, C_2H_5 , 4, 173—175°, IPA; VIP, C_2H_5 , 6, 129—130°, IPA; VIq, C_6H_5 , 2, 245°, MeCN; VIr, cyclo- C_6H_{11} , 2, 206—208°, IPA.

1-Benzylideneamino-2,3-dioxopiperazine (X) N-Aminoethylenediamine 45.0 g, benzaldehyde 131 g 及び benzene 800 ml を混合し, 共沸脱水反応によって生成する H_2O を完全に除去する. 反応液を冷却後 triethylamine 61.4 g を加え, ついで ethoxalyl chloride 91.0 g を氷冷下 1 hr を要して滴下し, 室温で 24 hr 反応させる. 副生する triethylamine hydrochloride を濾別し, 濾液を減圧濃縮して得られる残留物に 90% 含水酢酸 1050 ml を加え, 加熱還下 4 hr 反応させる. 溶媒を減圧下に留去しついで IPA 300 ml を加え析出する結晶を濾取し, MeOH から再結晶すれば白色結晶 50.0 g (収率 37.8%) を得. mp 230—232°. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1665 (C=O), 3375, 3280

(NH). *Anal.* Calcd. $C_{11}H_{11}N_3O_2$: C, 60.82; H, 5.10; N, 19.35. Found: C, 60.77; H, 5.14; N, 19.19.

アルキル化能 5% γ -(*p*-Nitrobenzyl)pyridine の acetone 溶液 0.4 ml, 0.025 M pH 6 の酢酸緩衝液 1 ml, 蒸留水 2 ml 及び試験化合物の 6 μ mol/ml acetone 溶液 1 ml を混合し反応液とした. この反応液を 37° で 1 hr 加温し, 次いで氷冷し acetone 2 ml, AcOEt 5 ml および 0.25 N NaOH 1.5 ml を加えた後十分に振盪し, 5 min 後に AcOEt 層を分取して 540 nm での吸光度を測定した.

水溶液中での安定性 試験化合物を 0.1 M pH 7.0 リン酸緩衝液, 0.1 M pH 4.0 クエン酸-リン酸ナトリウム緩衝液及び 0.2 M pH 8.0 ホウ酸-水酸化ナトリウム緩衝液に, それぞれ約 1000 μ g/ml となるように調整し 37° で, pH4 および pH 7 の場合は 2 hr 又 pH 8 の場合は 1 hr 加温し, 未変化体の残存率を高速液体クロマトグラフィーにより測定した. なお高速液体クロマトグラフィーは, 島津-DuPont 高速液体クロマトグラフ LC-1 を用い, カラムには Merck 社製 LiChrosorb RP-18 (10 μ m) を充填し, 内径 4 mm 長さ 25 cm のものを用いカラム温度は 30° とした. 移動相には H_2O -EtOH 系を用い, 実験目的に応じてグラジエント操作を用いその混合比を変えた. 流速は 1 ml/min とし試料はマイクロシリンジにより一定量注入し 254 nm の吸光度を測定した.